

(CYP21A2) 存在一个与其基因序列同源性高达 95% 的假基因 (CYP21A1P), 且致病基因改变导致疾病发生的主要机制是真假基因间的基因转换 (占比 90%), 故全外显子测序对于该病的检测并不适用。尽管一代测序有其自身的局限性, 但对于本病的检测而言, 我们可以通过在真假基因差异序列位置 (第 3、6 外显子) 巧妙地设计特殊引物, 以此来保证扩增过程只扩增致病基因, 从而排除假基因对于该病诊断的干扰。虽然该病目前还不能够完全治愈, 但其有确定的药物治疗方案。2010 年 Endocrine Society Clinical Guidelines Subcommittee 专家制定, 并发布了 21-OHD 临床实践指南。作为一种遗传病, 该病是可以进行产前诊断的, 21-OHD 的产前诊断是建立在临床背景的基础上, 通过生化测定和遗传诊断确定。同时, 该病还有不同于其他遗传病的另一个特点, 那就是可以进行产前治疗。研究表明, 宫内治疗对女性患儿治疗有效率可达 85%, 可以显著减轻或消除新生儿外生殖器畸形症状。所以该病应尽早确诊及规范治疗, 使患者可以避免发生失盐危象, 减少病死率; 避免骨龄老化, 改善终身高; 避免成年后生育功能障碍等。

参考文献

- [1] Goncalves J, Friaes A, Moura L. Congenital adrenal hyperplasia: focus on the molecular basis of 21-hydroxylase deficiency [J]. *Expert Rev Mol Med*, 2007, 9 (11): 1-23.
- [2] White P C, Speiser P W. Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency [J]. *Endocr Rev*, 2000, 21 (3): 245-291.
- [3] El-Maouche D, Arlt W, Merke D P. Congenital adrenal hyperplasia [J]. *Lancet*, 2017, 390 (10108): 2194-2210.
- [4] Simonetti L, Bruque C D, Fernandez C S, et al. CYP21A2 mutation update: Comprehensive analysis of databases and published genetic variants [J]. *Hum Mutat*, 2018, 39 (1): 5-22.
- [5] 中华医学会儿科学分会内分泌遗传代谢病学组. 先天性肾上腺皮质增生症 21-羟化酶缺陷诊治共识 [J]. *中华儿科杂志*, 2016, 54 (8): 569-576.
- [6] 张惠杰. 21 羟化酶缺乏症的临床与分子遗传学研究 [D]. 上海: 上海交通大学, 2008: 1-80.
- [7] Haider S, Islam B, D'Atri V, et al. Structure-phenotype correlations of human CYP21A2 mutations in congenital adrenal hyperplasia [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110 (7): 2605-2610.
- [8] New M I, Abraham M, Gonzalez B, et al. Genotype-phenotype correlation in 1, 507 families with congenital adrenalhyperplasia owing to 21-hydroxylase deficiency [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110 (7): 2611-2616.
- [9] Choi J H, Jin H Y, Lee B H, et al. Clinical phenotype and mutation spectrum of the CYP21A2 gene in patients with steroid 21-hydroxylase deficiency [J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2012, 120 (1): 23-27.
- [10] Hou L, Liang L, Lin S, et al. Analysis of phenotypes and genotypes in 84 patients with 21-Hydroxylase deficiency in southern China. *Steroids*, 2019, 151: 108474.
- [11] Mnif M F, Kamoun M, Kacem F H, et al. Reproductive outcomes of female patients with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency [J]. *Indian J Endocrinol Metab*, 2013, 17 (5): 790-793.
- [12] Ladd-Acosta C, Fallin M D. The role of epigenetics in genetic and environmental epidemiology [J]. *Epigenomics*, 2016, 8 (2): 271-283.
- [13] Cavalli G, Heard E. Advances in epigenetics link genetics to the environment and disease [J]. *Nature*, 2019, 571 (7766): 489-499.
- [14] Rabbani B, Mahdich N, Ashtian M T, et al. Mutation analysis of the CYP21A2 gene in the Iranian population [J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2012, 16 (2): 82-89.

• 临床研究 •

基于数据挖掘分析炭疽毒素受体 1 在胃癌中的表达及其意义

福建省立医院消化内镜中心 (福州 350001) 郑金辉 梁 玮 林晓露 黄正凌 王国伟 邓万银¹

【摘 要】 目的 通过生物信息学的方法分析炭疽毒素受体 1 (ANTXR1) 在胃癌中表达及意义, 揭示相应的分子机制。**方法** 检索多个公共数据库中有关 ANTXR1 表达和临床数据, 分析 ANTXR1 在胃癌中表达情况及其与包括预后在内的临床病理特征的关系, 并下载 ANTXR1 的共表达基因, 通过基因本体 (GO) 富集和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路分析预测 ANTXR1 参与的生物学过程。**结果** ANTXR1 在胃癌组织中的表达异常上调, 其表达与胃癌患者的 T 分期、

肿瘤分期、组织分化以及种族相关；并且 ANT XR1 高表达的患者预后差 (P 均 < 0.05)。ANT XR1 共表达基因主要参与细胞外基质组成、细胞外结构、胚胎器官发育等过程，并显著富集于多个致癌信号通路、细胞黏附分子、ECM-受体相互作用等相关通路。**结论** ANT XR1 高表达与胃癌患者预后不良有关，在胃癌发生发展中发挥着促癌作用，可能是胃癌的一个可靠的诊疗靶点。

【关键词】ANT XR1；胃肿瘤；预后；生物信息学

【中图分类号】R735.2 【文献标识码】B 【文章编号】1002-2600(2021)01-0014-04

Expression of ANT XR1 gene in gastric cancer and its significance based on data mining ZHENG Jinhui, LIANG Wei, LIN Xiaolu, HUANG Zhengling, WANG Guowei, DENG Wanyin. Digestive Endoscopy Center, Fujian Provincial Hospital, Fuzhou, Fujian 350001, China

【Abstract】 Objective To investigate the expression and significance of ANT XR1 in gastric cancer (GC), and to explore the potential molecular mechanisms. **Methods** We retrieved the expression and clinical data of ANT XR1 in several public databases, and analyzed the expression of ANT XR1 in GC and its relationship with clinicopathological features including prognosis. We further downloaded the co-expression gene of ANT XR1 and predicted the biological processes involved in ANT XR1 by GO and KEGG analysis. **Results** Compared to normal tissues, ANT XR1 was significantly upregulated in GC. The expression of ANT XR1 was significantly correlated with T stage, tumor stage, tissue differentiation and race of gastric cancer patients. The prognosis of patients with high ANT XR1 expression was poor. All the above analyses had statistical significance ($P < 0.05$). The co-expression genes of ANT XR1 were mainly involved in extracellular matrix composition, extracellular structure, embryonic organ development. Moreover, these genes were significantly enriched in several carcinogenic signaling pathways, cell adhesion molecules and ECM-receptor interactions. **Conclusion** The high expression of ANT XR1 is associated with poor prognosis of GC patients, which plays a role in promoting the development of GC. It may be a reliable target for diagnosis and treatment of GC.

【Key words】 ANT XR1; stomach neoplasms; prognosis; bioinformatics

炭疽毒素受体 1 (the anthrax toxin receptor 1, ANT XR1) 是由肿瘤内皮标记物 8 (tumor endothelial markers, TEM8) 基因编码的一种 564 个氨基酸的跨膜蛋白，是目前已知的促进炭疽毒素进入细胞的 3 种受体之一，其生理功能仍不清楚^[1]。目前研究表明 ANT XR1 在包括乳腺、肺癌、结肠癌和黑色素瘤在内的多种实体肿瘤中异常表达，突显了其在恶性肿瘤生物学中可能发挥着广泛作用^[2]，但对于胃癌 (gastric cancer, GC) 中 ANT XR1 的表达及其功能却知之甚少。本研究旨在通过多维度的生物信息学分析，探讨 ANT XR1 在 GC 发生发展中发挥的作用，研究结果可能揭示 GC 诊断和治疗的新靶点和策略。

1 数据来源与方法

1.1 ANT XR1 在胃癌中的表达：癌症基因组图谱 (The cancer genome atlas, TCGA) 可视化工具-GEPIA 数据库 (<http://gepia.cancer-pku.cn>) 是一个提供全面癌症转录组数据的网络资源。运用上述数据库分析 ANT XR1 基因在胃癌组织及相应正常胃组织中的表达情况。

1.2 ANT XR1 表达与 GC 临床病理特征的相关性：LinkedOmics 数据库 (<http://www.linkedomics.org/login.php>) 是用于分析 32 种 TCGA 癌症相关

的多维数据集。运用 LinkedOmics 网站的 HiseqRNA 平台的 RNAseq 和临床数据，分析 ANT XR1 的表达与 GC 患者临床病理特征的关系。

1.3 生存分析：通过在线分析 GEPIA 以及 Kaplan-Meier Plotter (<http://kmplot.com/analysis/>) 数据库研究 ANT XR1 基因表达水平与 GC 患者的生存期关系，包括 5 年总生存期 (overall survival, OS)，无疾病生存期 (disease free survival, DFS)，首次进展生存期 (first progression, FP) 以及再次进展生存期 (post progression survival, PPS)。Kaplan-Meier Plotter 数据来源于 GEO 数据库。

1.4 ANT XR1 共表达基因富集分析和通路注释：通过 LinkedOmics 数据库检索 GC 中与 ANT XR1 相关的差异表达基因 (ANT XR1 共表达基因)，利用上述共表达基因进行基因本体 (gene ontology, GO) 富集分析以及京都基因与基因组百科全书 (the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 功能注释，GO 分析包括：生物过程 (biological process, BP)、分子功能 (molecular function, MF) 和细胞组分 (cellular component, CC)。

1.5 统计学分析：本研究中差异性表达、临床病理因素相关性分析以及生存分析均由相应的数据库

分析。GO 和 KEGG 分析均使用 R 软件 (v. 3.6.0) 中相应的 Bioconductor 包进行。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ANTXR1 在胃癌组织中的表达情况: 通过 GEPIA 数据库分析 ANTXR1 在胃癌及相应癌旁组织的差异性表达, 结果显示: 与正常组织相比, ANTXR1 在胃腺癌 (stomach adenocarcinoma, STAD) 组织中的表达显著上调 (图 1, 见封四)。

2.2 ANTXR1 表达与 GC 临床病理特征的相关性: 我们进一步利用 LinkedOmics 数据库分析 ANTXR1 的表达与 GC 临床病理特征的相关性, 结果显示: ANTXR1 的表达与 GC 患者的 T 分期 ($P = 2.099 \times 10^{-6}$, $n = 406$)、肿瘤分期 ($P = 5.037 \times 10^{-3}$, $n = 392$)、组织分化 ($P = 1.263 \times 10^{-9}$, $n = 412$) 以及种族 ($P = 9.435 \times 10^{-3}$, $n = 395$) 相关。

2.3 ANTXR1 的表达与 GC 患者的生存期关系: 通过 GEPIA 和 Kaplan-Meier Plotter 数据库, 利用 TCGA 和 GEO 队列研究 ANTXR1 表达与 GC 患者预后的相关性。Kaplan-Meier 曲线显示: ANTXR1 高表达组的 OS ($P = 0.0043$)、DFS ($P = 0.011$)、FP ($P = 5 \times 10^{-5}$) 以及 PPS ($P = 3 \times 10^{-9}$) 均低于 ANTXR1 低表达组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 图 2, 见封四)。

2.4 ANTXR1 共表达基因 GO 富集和 KEGG 通路分析: 进一步对获得的 ANTXR1 共表达基因进行 GO 富集和 KEGG 通路分析, GO 富集分析表明: 这些共表达基因主要分布在胞外基质、含胶原的细胞外基质、内质网腔、粘连接合处等, 分子功能上主要集中在细胞外基质结构成分、生长因子结合、糖胺聚糖结合及整合素结合等, 主要参与的生物过程是细胞外基质组成、细胞外结构、胚胎器官发育、骨骼以及泌尿系统发育等 (图 3A, 见封四)。

KEGG 通路富集结果显示大部分共表达基因显著富集于多个已知致癌信号通路、细胞黏附分子、黏着斑途径、ECM-受体相互作用、干细胞多能性调节等相关通路 (图 3B, 见封四)。

3 讨论

St Croix 等^[3]于 2000 年首次鉴定了一类在肿瘤来源的血管内皮细胞特异性表达的基因, 称为肿瘤内皮标记物 (TEMs)。ANTXR1/TEM8 是 TEM 家族中的一员, 其在非血管内皮和正常血管内皮中仅有微量表达, 而在肿瘤血管内皮中高表达^[4]。目前, ANTXR1 的生理功能尚不完全清楚。越来越

多证据显示, ANTXR1 在几种类型的肿瘤细胞中发挥重要作用, 导致不同的结果。

Chen 等^[5]研究表明 ANTXR1 是乳腺癌肿瘤干细胞的一个功能性标志物, 通过激活 Wnt 信号, 并与 collagen VI 作用于信号网络, 通过正向调节肿瘤生长影响乳腺癌干细胞特征和转移潜能。并且, ANTXR1 在浸润性乳腺癌中上调, 是乳腺癌中驱动肿瘤细胞浸润和转移播散的重要因素, 与乳腺癌细胞增殖和侵袭性表型相关。Anette 等^[6]首次利用 CRISPR/Cas9 永久性破坏结肠癌细胞中的 ANTXR1 基因来研究其致癌效应, 结果显示: 与正常组织相比, ANTXR1 在结直肠癌中的表达上调, 高表达的 ANTXR1 患者具有较差的预后, 其发挥着驱动癌症进展的调控作用。Cao 等^[7]研究发现, ANTXR1 的下调导致了 p21 和 p27 的增加, 抑制 Erk1/2 活性介导的细胞周期蛋白 D1 的表达, 从而使体外和体内骨肉瘤细胞生长和增殖的降低。Maurya 等^[8]亦观察到了 ANTXR1 在胆囊癌中的表达模式, 其表达水平随肿瘤分期而显著增加。然而, ANTXR1 在 GC 中的表达、与包括预后在内的临床病理特征的关系以及潜在的生物学功能仍未被阐明。

随着基因组学的快速发展, 基因测序得到了广泛的应用, 生物信息学由此而生。生物信息学分析通过整合基因组水平的数据和系统的生物信息学方法来促进对疾病发生的理解, 尤其是癌症的分子机制提供至关重要的线索。因此, 为了深入地了解 ANTXR1 在 GC 发生发展中发挥的作用, 我们对多个公共数据库进行了多维度分析, 明确其在 GC 中的促癌作用, 为改善 GC 患者预后的提供新机会。我们的分析结果与上述学者们的研究一致: ANTXR1 在胃癌组织中高表达, ANTXR1 表达与 GC 患者包括肿瘤分期在内的多个临床病理特征 (T 分期、组织分化以及种族) 相关, 重要的是, ANTXR1 过表达患者的生存时间短于低表达患者。

从生物学的角度看, 共表达基因具有相似的表达模式, 它们可能具有相似的功能。因此, 从大量转录组数据中计算出的基因-基因共表达相关性有助于揭示基因的未知功能以及可能参与的分子机制^[9]。我们通过对 ANTXR1 共表达基因富集分析和通路注释, 预测其 GC 中涉及的生物学功能。本文 GO 富集分析结果显示 ANTXR1 共表达基因主要分布于细胞外基质, 并且参与主要的生物过程是细胞外基质组成和构成。KEGG 通路富集结果显示

共表达基因显著富集于 PI3K-Akt、WNT 以及 TGF- β 等多个已知致癌信号通路, 并与细胞黏附分子、细胞外基质 ECM-受体相互作用、干细胞多能性调节等相关通路紧密联系。后续通过广泛的文献阅读, 我们发现研究认为 ANT XR1 在肿瘤微环境中特异性表达, ANT XR1 通过与裂解的胶原 VI a3 的 C5A 片段相互作用桥接了肿瘤微环境中胶原切割和重塑的网络, 将其与驱动转移进展的干性信号网络联系起来^[5,10]。因此, 我们有理由推断 ANT XR1 是胃癌肿瘤微环境中的关键成分, 通过影响上述某个信号通路参与胃癌干性和/或转移过程。

综上所述, 本文结果表明, ANT XR1 在人类 GC 的进展中起着重要的作用, ANT XR1 可能成为 GC 诊断和预后判断新的分子靶点; 但要全面了解其在 GC 中生物学效应的分子机制, 仍需进一步进行在体内和体外的研究验证。

参考文献

- [1] Bradley K A, Mogridge J, Mourez M, et al. Identification of the cellular receptor for anthrax toxin [J]. *Nature*, 2001, 414 (6860): 225-229.
- [2] Chaudhary A, Hilton M B, Seaman S, et al. Tem8/antxr1 blockade inhibits pathological angiogenesis and potentiates tumoricidal responses against multiple cancer types [J]. *Cancer Cell*, 2012, 21 (2): 212-226.
- [3] St Croix C M, Morgan B J, Wetter T J, et al. Fatiguing inspiratory muscle work causes reflex sympathetic activation in humans [J]. *Journal of Physiology*, 2010, 529 (2): 493-504.
- [4] Hotchkiss K A, Basile C M, Spring S C, et al. Tem8 expression stimulates endothelial cell adhesion and migration by regulating cell-matrix interactions on collagen [J]. *Experimental Cell Research*, 2005, 305 (1): 133-144.
- [5] Chen D, Bhatnaksatri P, Goswami C, et al. Antxr1, a stem cell enriched functional biomarker, connects collagen signaling to cancer stem-like cells and metastasis in breast cancer [J]. *Cancer Research*, 2013, 73 (18): 5821-5833.
- [6] Høye A M, Tolstrup S D, Horton E R, et al. Tumor endothelial marker 8 promotes cancer progression and metastasis [J]. *Oncotarget*, 2018, 9 (53): 30173-30188.
- [7] Cao C, Wang Z, Huang L, et al. Down-regulation of tumor endothelial marker 8 suppresses cell proliferation mediated by erk1/2 activity [J]. *Scientific reports*, 2016, 6 (1): 23419.
- [8] Maurya S K, Tewari M, Kumar M, et al. Expression pattern of tumor endothelial marker 8 protein in gallbladder carcinomas [J]. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2011, 12 (2): 507-512.
- [9] Sakurai N, Ara T, Ogata Y, et al. Kappa-view 4: A metabolic pathway database for representation and analysis of correlation networks of gene co-expression and metabolite co-accumulation and omics data [J]. *Nucleic Acids Research*, 2011, 39 (Database issue): D677-684.
- [10] Finak G, Bertos N, Pepin F, et al. Stromal gene expression predicts clinical outcome in breast cancer [J]. *Nature Medicine*, 2008, 14 (5): 518-527.

• 临床研究 •

P53、ER、PR 在 I 期子宫内膜癌中的表达及其与临床病理特征的相关性分析

福建省肿瘤医院 福建医科大学附属肿瘤医院妇科 (福州 350014) 郭慈仁 陈桂林 江信燕 石怀景 林 洁¹

【摘要】目的 观察 I 期子宫内膜癌中 P53、雌激素受体 (ER)、孕激素受体 (PR) 的表达情况, 并探讨其与临床病理特征的关系。**方法** 应用免疫组化 S-P 法检测 2015 年 5 月至 2020 年 7 月我院收治的 188 例临床诊断为 I 期的子宫内膜癌患者术后癌组织标本中 P53、ER、PR 的表达情况, 应用统计学方法分析其表达与临床病理特征间的关系。**结果** 1) P53、ER、PR 在 I 期子宫内膜癌中的阳性表达率分别为 60.6%、90.4% 和 85.6%; 2) P53 的表达与组织学类型、淋巴结转移有关 (均 $P < 0.05$), 而与年龄、组织学分级、脉管癌栓及深肌层浸润无关 (均 $P > 0.05$); ER、PR 的表达与组织学类型、组织学分级有关 (均 $P < 0.05$), 而与年龄、淋巴结转移、脉管癌栓及深肌层浸润无关 (均 $P > 0.05$)。**结论** 联合检测 P53、ER、PR 有助于了解早期子宫内膜癌的生物行为, 对术后内分泌治疗及预后评估有一定的参考价值。

【关键词】 P53; 雌激素受体; 孕激素受体; 子宫内膜癌

¹ 通信作者, Email: 295130660@qq.com